

Технические характеристики и аналитические параметры иммуноферментного набора реагентов «ИФА-Микроальбумин»

Серченя Т.С.¹, Нечесова Т.А.², Свиридов О.В.¹

¹Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск

²РНПЦ «Кардиология», г. Минск,

E-mail: serchenya@iboch.bas-net.by

Набор реагентов «ИФА-Микроальбумин» предназначен для количественного определения альбумина в моче человека методом конкурентного иммуноферментного анализа с целью диагностики микроальбуминурии. Измерение концентрации альбумина в моче имеет диагностическое, клиническое и прогностическое значение для выявления ранних стадий поражения почек у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и сахарным диабетом. Микроальбуминурия является маркером эндотелиальной дисфункции и предиктором неблагоприятного прогноза заболеваний у данной категории пациентов и устанавливается при содержании белка в моче 20-200 мг/мин или 30-300 мг/сут.

В разработанном наборе использован конкурентный вариант твердофазного иммуноферментного анализа, для реализации которого применяется микро-планшет с иммобилизованным альбумином. При внесении в лунки микропланшета калибровочных, контрольной или исследуемых проб и очищенных антиген-аффинной хроматографией антител к альбумину, меченных пероксидазой, происходит конкурентное распределение конъюгата между альбумином, адсорбированным на твердой фазе, и альбумином, находящимся в растворе. Количество связавшегося с твердой фазой конъюгата выявляется с помощью хромоген-субстратного раствора. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации альбумина в пробах. Оптическая плотность растворов в лунках измеряется при длине волны 450 нм и строится калибровочная кривая зависимости оптической плотности от концентрации альбумина в калибровочных пробах, по которой рассчитывается концентрация белка в контрольной и исследуемых пробах.

В состав набора входят 7 компонентов, среди которых базовые компоненты – иммуносорбент, калибровочные и контрольная пробы и конъюгат. Вспомогательными компонентами набора являются раствор для разведения конъюгата, концентрат промывочного раствора, хромоген-субстратный раствор и стоп-реагент. Для рационального использования ресурсов набора и возможности нескольких постановок анализа иммуносорбент в составе набора используется в разборной конструкции. Срок годности – 12 месяцев от даты изготовления.

Разработанный набор «ИФА-Микроальбумин» позволяет проводить измерения в широком диапазоне концентраций 0,5-300 мг/л. Набор характеризуется хорошей повторяемостью результатов измерений (коэффициент вариации не превышает 10 %) и надлежащей аналитической чувствительностью (0,3 мг/л). Процент «открытия» альбумина в исследуемых пробах и «линейность» измерения находятся в диапазоне 85-115 %. Не требуется предварительного разведения исследуемых проб, необходимый объем образца для постановки анализа составляет 40 мкл. Продолжительность анализа не превышает 1,5 ч. По результатам сравнительных исследований установлена высокая корреляция измерения альбумина ($r = 0,97$) при применении набора «ИФА-Микроальбумин» и импортного аналога. Проведены клинические испытания набора в трех клинико-диагностических лабораториях и получено регистрационное удостоверение МЗ РБ.